

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑪ **DE 38 14 806 A 1**

⑥1 Int. Cl. 4:
A61 K 37/18

⑳1 Aktenzeichen: P 38 14 806.4
㉔2 Anmeldetag: 2. 5. 88
㉔3 Offenlegungstag: 16. 11. 89

Abhördeneigentum

DE 38 14 806 A 1

㉔71 Anmelder:
Stein, Christoph v., Dr.rer.nat., 8000 München, DE

㉔72 Erfinder:
gleich Anmelder

⑤4 Verfahren zur Stabilisierung von Aminosäuren-Infusionslösungen

Aminosäuren-Infusionslösungen werden bisher durch Inertbegasung oder Zusatz von Sulfit gegen oxidative Zersetzung stabilisiert. Durch Inertbegasung bei der Herstellung kann der Sauerstoff nicht restlos entfernt werden. Reaktionsprodukte des Sulfits werden zunehmend mit schwerwiegenden Zwischenfällen bei der Infusionstherapie in Verbindung gebracht.

Durch Zusatz von weniger als 0,5% Cystein, N-Acetylcystein oder deren Salze und Ester als Stabilisator können durch Restsauerstoff oder während der Lagerung diffundierten Sauerstoff verursachte Zersetzungsreaktionen vermieden werden.

Stabilisierung von Aminosäuren-Infusionslösungen gegen oxidative Zersetzung.

DE 38 14 806 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft die Stabilisierung von Aminosäuren-Infusionslösungen gegen oxidative Zersetzung nach obigem Anspruch. Solche Lösungen werden für die parenterale Ernährung von Menschen benötigt, die oral überhaupt nicht oder nicht ausreichend ernährt werden können. Sie müssen steril, pyrogenfrei, partikelarm und chemisch stabil sein.

Durch die Temperaturbelastung während der Sterilisation sowie durch Lichtexposition können sie leicht in ihrer chemischen Stabilität beeinträchtigt werden (1). Vor allem Tryptophan (2-4), Tyrosin, Histidin und Methionin (4) haben sich als besonders oxidationsempfindlich erwiesen. Zwischen den Oxidationsprodukten dieser Substanzen und intakten Aminosäuren können dann Maillard-Reaktionen ablaufen, wodurch Gehaltsverluste sowie die Bildung von Agglomeraten und möglicherweise mutagen wirkenden Reaktionsprodukten verursacht wird (5, 6).

Erkennbar sind diese Vorgänge mit relativ einfachen Mitteln an einer zunehmenden Gelbfärbung der Lösungen mit Extinktionszunahme im längerwelligen UV-Bereich ($> 300 \text{ nm}$).

Da das Problem der oxidativen Zersetzung bekannt ist, werden vor allem zwei Verfahren zur Stabilisierung angewandt. Zum einen wird der Sauerstoff aus der Lösung und den Leerflaschen durch Inertbegasung mit Stickstoff und Evakuierung des Totraumes vor dem Aufsetzen des Gummistopfens weitgehend entfernt. Dabei werden unter günstigen Umständen Werte von deutlich unter 10% der Sättigungskonzentration erreicht. Eine vollständige Entfernung des Sauerstoffs scheint bisher nicht möglich zu sein. Außerdem bedingt das Vakuum in der Flasche eine merkliche Zunahme des Sauerstoffgehalts während der Lagerung.

Ferner wird solchen Lösungen zur Sauerstoffbindung teilweise auch Sulfit zugesetzt, insbesondere dann, wenn Cystein als wirksamer Bestandteil enthalten ist. Die Reaktionsprodukte des Sulfit werden jedoch zunehmend mit schweren Zwischenfällen bei der Infusionstherapie, wie anaphylaktischer Schock, Asthmaanfälle, Brechreiz und Durchfall in Verbindung gebracht, was bereits eine entsprechende Bekanntmachung des Bundesgesundheitsamtes zur Folge hatte (7).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, oxidative Zersetzungsreaktionen in Aminosäuren-Infusionslösungen über das mit den Möglichkeiten der Inertbegasung hinaus erzielbare Maß hinaus durch physiologisch unbedenkliche Hilfsstoffe zu verhindern.

Dies kann durch Zusatz von Cystein oder N-Acetylcystein erreicht werden. Die Substanz ist eine nur bei Frühgeborenen essentielle Aminosäure, deren künstliche Zufuhr in allen anderen Fällen auch bei längerfristiger parenteraler Ernährung nicht erforderlich ist. Das Hauptoxidationsprodukt Cystin ist ebenfalls physiologisch. Die Effizienz der Verbindung hat sich z. B. schon bei der Stabilisierung von noch wesentlich instabileren Epinephrin-Lösungen erwiesen (8).

Durch Zusatz dieser Substanzen ist es möglich die durch Restsauerstoff und während der Lagerung eindiffundierenden Sauerstoff insbesondere bei Lichtexposition verursachten Abbaureaktionen physiologisch verträglich deutlich zu reduzieren.

Anwendungsbeispiel

Eine 10%ige Aminosäurenlösung der Zusammensetzung nach Anlage 1 wurde mit verschiedenen Konzentrationen an N-Acetylcystein versetzt. Einflüsse der Sterilisation und der Tageslichtexposition wurden mit Hilfe der in Anlage 2 beschriebenen Prüfmethode untersucht.

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, konnte hinsichtlich des Einflusses der Sterilisation kein eindeutiger Unterschied festgestellt werden. Ein geringfügig besseres Ergebnis ist jedoch bei der acetylcysteinhaltigen Zubereitung zu verzeichnen.

Tabelle 1

Meßwerte vor und nach der Sterilisation

Rezeptur	1	1	3	3
Prüftermin	vor der Sterilis.	nach der Sterilis.	vor der Sterilis.	nach der Sterilis.
O ₂ % Sättigung	8,5	7,6	8,7	7,3
E1325	0,028	0,032	0,028	0,025
Farbe	< G 9	< G 9	< G 9	< G 9

Tabelle 2

Meßwerte nach Tageslichtexposition am Fenster zwischen dem 10. 03. und 14. 04. 88

Rezeptur	1	2	3	4	1	2	4	5
Prüfung nach Tagen	14	14	14	14	35	35	35	
O ₂ % Sättigung	2,5	2,1	1,8	1,7	1,8	1,2	0,8	
E _λ 325	0,142	0,047	0,047	0,045	0,196	0,052	0,049	10
Farbe	BG 7	G 9	G 9	G 9	BG 6+	G 9	G 9	

E_λ 325: Extinktion bei der Wellenlänge 325 nm, Schichtdicke 10 mm;

Farbe: Angabe nach den Farbtabelle des Deutschen Arzneibuches, 9. Ausgabe, BG = braungelb, G = gelb.

Ausgeprägte Unterschiede ergeben sich jedoch, wenn die Lösungen anschließend nur 14 Tage dem Tageslicht ausgesetzt werden. Während bei den Lösungen mit N-Acetylcystein nur eine äußerst geringfügige Farbzunahme eintritt, verändert sich die Färbung bei der hilfsstofffreien Zubereitung um über zwei Stufen und auch die Extinktion bei 325 nm ist deutlich erhöht.

Nach weiteren 21 Tagen kommt es bei den Rezepturen 2 und 4 praktisch zu keiner weiteren Veränderung mehr. Die Farbe der Ausgangslösung wird dagegen um mehr als eine Farbstufe intensiver. Die Extinktion nimmt ebenfalls nochmals zu.

Bei allen Zubereitungen nimmt der Sauerstoffgehalt als Folge der Oxidationsreaktionen stark ab.

Literatur

(1) Bhatia, J. et al. the Journal of Pediatrics 1980, 96, 284-6 Effect of Phototherapy on amino acid solutions containing multivitamins

(2) Cuq, J. C. u. J. C. Cheftel Food Chemistry 1983, 12, 1-14 Tryptophan degradation during heat treatments Part I

(3) Cuq, J. C. u. J. C. Cheftel Food Chemistry 1983, 12, 73-88 Tryptophan degradation during heat treatments Part II

(4) Papeschi, G., M. Monici u. M. Carla Annali di Chimica (Roma) 1982, 72, 247-54 Use of an amperometric sensor in the study of photosensitized oxidation of Proteins

(5) Omura, H. et al. ACS Symp. Ser. 1983, 215 (Maillard React. Foods Nutr.) 537-63 Formation of mutagens by the Maillard reaction

(6) Shinohara, K. et al. Mutat. Res. 1983, 122, 279-86 Formation of mutagens by carbonyl reactions

(7) Bekanntmachung des Bundesgesundheitsamtes Pharmazeutische Zeitung 1984, 129, 1689 Aufruf zur Mitteilung von Angaben über die Verwendung von Sulfid (Schwefeldioxid u. Salze der schwefligen Säure) in Human- u. Veterinärarzneimitteln

(8) Wollmann, H. u. G. Raether Die Pharmazie 1983, 38, 37-42 Testing the efficiency of stabilizers in epinephrine model solutions Part 19: Stability of drugs and pharmaceutical preparations

Anlage 1

Zusammensetzung und Herstellung der Modelllösung

1. Zusammensetzung

1000 ml enthalten:

L-Isoleucin	5,0 g
L-Leucin	7,4 g
L-Lysinacetat	9,31 g
L-Methionin	4,3 g
L-Phenylalanin	5,1 g
L-Threonin	4,4 g
L-Tryptophan	2,0 g
L-Valin	6,2 g
L-Arginin	12,0 g
L-Histidin	3,0 g
Aminoessigsäure	14,0 g
L-Alanin	15,0 g
L-Prolin	15,0 g
Essigsäure	8,01 g

Rezeptur 1: unverändert

Rezeptur 2: Zusatz von 0,4 g/l N-Acetylcystein

Rezeptur 3: Zusatz von 1,0 g/l N-Acetylcystein

Rezeptur 4: Zusatz von 2,0 g/l N-Acetylcystein

5

2. Herstellung

10

- Lösung der Substanzen in Aqua ad Iniectionabilia bei 55°C
- Vollständige Verdrängung des Sauerstoffs durch Stickstoff und Kühlung auf 30°C
- Filtration über Filterelemente der Porenweite 0,2 µm
- Abfüllung in sauerstofffreie Infusionsflaschen DIN leicht 500 ml
- Verschließen der Flaschen mit Brombutylgummistopfen und Pull off Bördekappen
- Sterilisation mit einem modifizierten Heißwasserberieselungsverfahren bei 121°C/15 Minuten

15

Anlage 2

Angaben zur Meßmethodik

1. Messung der Sauerstoffkonzentration

20

Gerät: Oxo Digi 550 der Fa. WTW in Weilheim

Meßprinzip: Clark-Elektrode

Meßwertauswertung: Umrechnung der in mg/l erhaltenen Meßwerte in % der Sättigungskonzentration bei der jeweiligen Temperatur

25

Eichung des Gerätes: jeweils durch Bestimmung des Nullpunktes in 3%iger Natriumsulfit-Lösung und Messung der Sauerstoffkonzentration luftgesättigten Wassers laut Bedienungsanleitung

2. Messung der Extinktion

30

Gerät: Registrierendes Spektralphotometer der Fa. Bausch & Lomb mit Quarzküvetten, Schichtdicke 10,00 mm
Meßprinzip: Durch Aufnahme von Spektren verschieden stark zersetzter Lösungen konnte ermittelt werden, daß Messungen bei der Wellenlänge 325 nm eine genaue Differenzierung ermöglichen

3. Bestimmung des Verfärbungsgrades

35

Die angegebenen Kennzahlen beziehen sich auf Farbverdünnungen wie sie im Deutschen Arzneibuch, 9f. Ausgabe beschrieben werden. Da die gelbe und die braungelbe Verdünnungsreihe bei Stufe 6 enden, wurden die Abstufungen 7–9 nach der für die braune Reihe angegebenen Vorschrift hergestellt.

40

Patentanspruch

Verfahren zur Stabilisierung von Aminosäureninfusionslösungen gegen oxidative Zersetzung, dadurch gekennzeichnet, daß der Lösung 0–0,5% Cystein oder N-Acetylcystein sowie deren Salze und Ester als Stabilisator zugesetzt wird.

45

50

55

60

65